

# PENGARUH PENAMBAHAN SARI BUAH TOMAT DALAM MEDIA PENGECER TERHADAP MOTILITAS DAN VIABILITAS SPERMATOZOA KAMBING BOER YANG DISIMPAN PADA SUHU 3–5 °C

## *Effect Supplementation Tomatoes Juice in Extender on Molitity and Viabilitas of Spermatozoa Boer Goats Preserved at 3–5 °C*

**Rosmaidar<sup>1</sup>, Dasrul<sup>2</sup> dan Triva Murtina Lubis<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

<sup>2</sup>Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

<sup>3</sup>Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

### ABSTRAK

Penelitian bertujuan menguji pengaruh penambahan sari buah tomat dalam pengencer terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing Boer yang disimpan pada suhu 3 – 5 °C. Semen ditampung dengan menggunakan elektroejakulator satu kali dalam satu minggu. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan dan lima ulangan. Perlakuan terdiri dari larutan sitrat-kuning telur (P0); sitrat-kuning telur ditambah sari buah tomat 20% (P1); sitrat-kuning telur ditambah sari buah tomat 40% (P2) dan sitrat-kuning telur ditambah sari buah tomat 80% (P3). Parameter yang diamati adalah persentase motilitas spermatozoa dan persentase spermatozoa hidup. Pengamatan dilakukan pada waktu 1, 24, 48 sampai 72 jam setelah pendinginan. Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa penambahan sari buah tomat berpengaruh sangat nyata terhadap persentase motilitas dan spermatozoa hidup kambing Boer setelah pendinginan. Penambahan sari buah tomat 20 % dalam pengencer sitrat kuning telur menghasilkan persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa kambing Boer yang lebih baik.

Kata kunci: kambing boer, motilitas and viabilitas spermatozoa, jus buah tomat.

### ABSTRACT

*The purpose of this research was examine the effect of jus tomatoes on motility and viability of boer goats spermatozoa preserved at 3–5°C. Semen was collected using electroejaculator once a week. This research used Completely Randomized Design consisting of four treatments and five repetition. The treatments are sitrat with yolk egg as control (P0), sitrat with yolk egg added 20 % tomato extract (P1); sitrat with yolk egg added 40 % tomato extract (P2) and sitrat with yolk egg added 80 % tomato extract (P3). The parameters were time of formation of percentage motility and life sperm percentage. Observations were made at 1, 24, 48, until 72 hour after refrigeration. The results showed that addition tomato extract was significant higher on the motility and the percentage of live spermatozoa of Boer goat after refrigeration. It was conclude that the addition of 20 % tomato extract can reduced of decrease of motility and live spermatozoa percentage than those control.*

Key Word : Boer Goat, sperm of motility, extender and extract tomato

### PENDAHULUAN

Potensi pengembangan budidaya peternakan di Provinsi Aceh sangat besar, mengingat kapasitas produksi yang masih sangat kecil dibandingkan dengan kebutuhan. Peningkatan kapasitas produksi ternak dapat dilakukan dengan perbaikan mutu genetik ternak tersebut. Kambing merupakan salah satu jenis ternak yang sering dikembangkan oleh masyarakat di Propinsi Aceh. Namun demikian populasi dan mutu genetik ternak kambing cenderung menurun dari tahun ke tahun. Tingginya tingkat penurunan populasi ternak kambing

ini selain disebabkan oleh tingginya tingkat pemotongan, juga disebabkan pengelolaan yang kurang baik yang berakibat rendahnya tingkat produktivitas ternak kambing lokal (Anonimus, 2007).

Salah satu upaya untuk memperbaiki mutu genetik ternak kambing di Propinsi Aceh dilakukan melalui perkawinan silang antara ternak lokal dengan ternak unggul dan juga pemanfaatan teknologi inseminasi buatan (IB). Penerapan teknologi IB pada ternak kambing dapat menggunakan semen beku maupun semen cair yang diperbanyak volumenya sehingga dapat dimanfaatkan untuk melayani beberapa betina dalam

kurun waktu yang lebih lama. Namun penggunaan semen cair untuk IB pada ternak kambing masih banyak menimbulkan permasalahan, terutama menyangkut penggunaan jenis pengencer yang tepat sehingga mampu mempertahankan motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa selama pengenceran dan inseminasi pada betina (Hafez, 2000).

Pengenceran semen dapat dilakukan dengan penambahan bahan-bahan tertentu yang mampu memberikan makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa dan dapat memperpanjang daya hidup spermatozoa di luar tubuh (Salisbury dan Van Demark, 1985; Solihati dan Kune. 2004). Syarat utama bahan pengencer semen adalah harus dapat menyediakan nutrisi bagi kebutuhan spermatozoa selama penyimpanan seperti karbohidrat, protein, vitamin, mineral, dan zat organik lainnya. Harus memungkinkan spermatozoa dapat bergerak secara progresif, tidak bersifat racun bagi spermatozoa, menjadi penyanggah (*buffer*) bagi spermatozoa dan dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*) selama pendinginan atau pembekuan (Toelihere, 1981; Salisbury dan Van Demark, 1985).

Pengencer yang sering digunakan untuk pengenceran semen adalah Tris-kuning telur, sitrat-kuning telur, susu segar-kuning telur, susu skim-kuning telur, AndroMed, dan laktosa-kuning telur, namun mengingat bahan tersebut sangat terbatas dan sulit didapatkan di daerah, maka perlu dicari alternatif lain sebagai bahan pengencer, seperti diantaranya dengan memanfaatkan sari buah-buahan. Dewasa ini pengencer alternatif menggunakan sari buah sudah pernah dilakukan diantaranya dari buah melon (Herdis *et al.*, 2003). dan sari wortel (Rizal dan Herdis, 2008). Semen domba yang di encerkan dengan sari buah melon dengan kuning telur mampu bertahan hidup selama 3 - 5 hari dalam suhu 3 - 5 °C (Herdis *et al.*, 2003). Buah-buahan lain yang dapat dicoba untuk digunakan sebagai bahan pengencer alternatif semen adalah sari buah tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill). Sumardiono *et al.*, (2009) menjelaskan

bahwa sari tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill) mengandung berbagai nutrisi seperti karbohidrat, protein, vitamin A, vitamin C dan likopen yang berfungsi sebagai antioksidan. Kandungan karbohidrat dan antioksidan sari buah tomat dapat berfungsi sebagai sumber energi dan berpotensi menghambat radikal bebas yang dapat merusak sel (Maulida *et al.*, 2010). Ketersediaan buah tomat yang tergolong mudah diperoleh juga menjadi suatu kelebihan sehingga dapat diprioritaskan untuk dilakukan penelitian. Berdasarkan hal tersebut telah dilakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan sari buah tomat sebagai pengencer alternatif dan pengaruhnya dalam mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing peranakan Boer setelah pendinginan pada suhu 3 – 5 °C. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi lebih lanjut tentang pengembangan pengenceran semen menggunakan sari buah tomat sebagai bahan pengencer semen alternatif, yang dapat mempertahankan daya tahan hidup dan motilitas dari spermatozoa kambing peranakan Boer.

## MATERI DAN METODE

### Pembuatan sari buah tomat sebagai bahan pengencer semen

Sebanyak  $200 \pm 250$  gram buah tomat masak yang diperoleh dari lahan pertanian organik dipotong-potong, kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Suspensi hasil blender tersebut saring dengan menggunakan kain kasa, selanjutnya dimasukan dalam tabung erlenmeyer 250 ml dan biarkan mengendap. Ambil bagian atasnya (supernatannya) masukkan dalam tabung reaksi steril untuk menggunakan sebagai bahan pengencer alternatif selanjutnya.

### Pembuatan bahan pengencer semen alternatif sari buah tomat

Konsentrasi pengencer dalam penelitian ini dilakukan dengan cara menambahkan bahan pengencer dasar

larutan Na-sitrat kuning telur dengan masing-masing sari tomat sesuai konsentrasi yang diinginkan. Kelompok Sari tomat dibuat dengan perbandingan larutan Na-sitrat : Sari tomat : kuning telur yaitu (P0) 4:0:1; (P1) 3:1:1; (P2) 2:2:1; dan (P3) 1:4:1; Jumlah bahan pengencer yang ditambahkan terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi bahan pengencer yang digunakan

|                   | Kelompok Perlakuan jus Tomat |              |              |              |
|-------------------|------------------------------|--------------|--------------|--------------|
|                   | TK0<br>(0%)                  | TK1<br>(20%) | TK2<br>(40%) | TK3<br>(80%) |
| Na. Sitrat (ml)   | 80                           | 60           | 20           | 0            |
| Sari Tomat (ml)   | 0                            | 20           | 40           | 80           |
| Kuning Telur (ml) | 20                           | 20           | 20           | 20           |
| Volume (ml)       | 100                          | 100          | 100          | 100          |

Setiap kelompok pengenceran tersebut ditambahkan *penicillin* 1000 IU/ml dan streptomisin 1000 µg/ml. Total volume bahan pengencer yang dibuat 100 ml.

#### Penampungan semen dan evaluasi semen.

Semen yang akan digunakan pada penelitian ini diperoleh dari satu ekor kambing boer jantan sehat berumur 18 sampai 24 bulan, dengan berat badan antara 30 – 35 kg. Penampungan semen dilakukan dengan menggunakan elektroejakulator pada pagi hari (jam 9.30 s/d 10.30 WIB) satu kali dalam seminggu. Prosedur penampungan semen dilakukan berdasarkan metode yang biasa dilakukan di BIB Singosari Malang. Segera setelah semen ditampung dilakukan evaluasi kualitas semen secara makroskopis (volume, warna, bau dan konsistensi) dan mikroskopis (konsentrasi, motilitas, persentase hidup/mati dan abnormalitas spermatozoa). Semen yang mempunyai konsentrasi > 600 juta/ml, motilitas progresif > 70 % dan abnormalitas < 20 % digunakan sebagai sampel.

#### Pengenceran semen

Semen segar yang telah dievaluasi segera diencerkan dengan pengencer dasar larutan natrium sitrat 2,9 % dengan perbandingan 1 : 4. Kemudian suspensi semen tersebut dibagi dalam 4 bagian dan

dimasukan dalam tabung yang telah berisi pengencer sesuai dengan kelompok perlakuan.

Volume masing-masing pengenceran yang pertama kali ditambahkan pada semen sesuai dengan volume semen yang diperoleh. Selanjutnya ditambahkan sedikit demi sedikit sampai volume yang diinginkan terpenuhi. Konsentrasi semen yang diinginkan adalah 10 juta spermatozoa/ml.

#### Pendinginan semen

Semen yang sudah diencerkan sesuai pengencer masing-masing kelompok perlakuan, dimasukan ke dalam eppendorf (1,5 ml). Semen selanjutnya disimpan didalam *refrigerator* (lemari pendingin) dengan suhu 4-5 °C selama 4 hari.

#### Pemeriksaan persentase motilitas spermatozoa

Perhitungan motilitas spermatozoa dilakukan menggunakan gelas obyek yang ditetesi 10-15 µl semen dan tutup dengan gelas penutup. Sediaan diperiksa dengan pembesaran 400 kali menggunakan mikroskop cahaya biasa atau mikroskop fase kontras. Spermatozoa yang motil akan nampak bergerak maju ke depan. Selanjutnya spermatozoa yang motil dihitung dan diberi nilai dari jumlah keseluruhan dalam persen (%).

#### Persentase spermatozoa hidup

Perhitungan persentase spermatozoa hidup dilakukan melalui teknik pewarnaan dengan menggunakan semen dan larutan pewarna eosin negrosin (2%). Sebanyak satu tetes semen dicampurkan dengan satu tetes larutan pewarna lalu dibuat preperat ulas dan dikeringkan. Spermatozoa yang mati akan menyerap warna sedangkan spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna. Selanjutnya spermatozoa yang hidup dihitung dan dibagi jumlah seluruh spermatozoa (spermatozoa hidup + spermatozoa mati) dengan jumlah spermatozoa sebanyak 200 spermatozoa dan dinyatakan dalam persen (%).

## Analisa Data

Data daya tahan hidup dan persentase motilitas spermatozoa yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) pola satu arah, dan bila terdapat perbedaan perlakuan dengan kontrol, maka data selanjutnya diuji dengan uji berganda Duncant (Steel dan Torrie, 1990).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kualitas Semen Segar Kambing Boer

Dasar ketentuan untuk menentukan semen segar yang layak untuk dijadikan sampel dapat dilihat dari hasil evaluasi semen segar. Persyaratan yang harus dipenuhi antara lain volume dan pH semen, gerakan massa, konsentrasi, motilitas progresif, dan abnormalitas sperma serta sejumlah ukuran biokimia lainnya. Hasil pemeriksaan kualitas semen segar kambing Boer setelah koleksi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata ( $X \pm SD$ ) kualitas semen segar kambing Boer setelah koleksi

| Parameter                        | Hasil Pengamatan     |
|----------------------------------|----------------------|
| Volume (ml)                      | $1,05 \pm 0,15$      |
| Warna                            | Krem keputih-putihan |
| Konsistensi                      | Agak Kental          |
| Gerak massa                      | ++/+++               |
| pH                               | $6,53 \pm 0,15$      |
| Motilitas (%)                    | $76,67 \pm 5,77$     |
| Konsentrasi ( $10^9$ /ml)        | $2,17 \pm 0,08$      |
| Persentase spermatozoa hidup (%) | $87,54 \pm 2,18$     |
| Abnormalitas (%)                 | $6,38 \pm 1,96$      |

### Volume semen

Rata-rata volume kambing Boer dari 5 ejakulat yang digunakan pada penelitian ini adalah  $1,05 \pm 0,15$  ml, dengan kisaran antara 0,9 – 1,2 ml. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil yang dilaporkan Isnaini (2006) yaitu  $0,81 \pm 0,33$  ml dengan menggunakan vagina buatan.

Adanya perbedaan nilai rata-rata volume semen tersebut sangat dipengaruhi oleh metode penampungan semen. Pada penelitian ini penampungan semen dilakukan dengan menggunakan elektroejakulator sedangkan penelitian yang

dilakukan oleh Isnaini (2006) menggunakan vagian buatan. Beberapa peneliti terdahulu melaporkan bahwa penampungan semen dengan elektroejakulator menghasilkan volume yang lebih banyak dibandingkan dengan menggunakan vagian buatan (Toelihere, 1985; Hafez, 2004 dan Gang Yi *et al.*, 2001). Selain itu perbedaan ini juga diakibatkan oleh kondisi masing-masing individu (variasi individu) seperti kualitas reproduksi, umur dan kondisi ternak serta metode koleksi yang digunakan. Menurut Toelihere (1985), kualitas dan kuantitas semen segar dipengaruhi oleh umur, kualitas pakan, berat badan, kondisi dan bangsa ternak.

### Warna, Konsistensi dan Konsentrasi

Rata-rata warna semen yang diperoleh berwarna putih susu atau krem keputihan dan konsistensinya berkisar antara sedang sampai kental (rata-rata agak kental). Hasil ini juga serupa dengan yang dilaporkan Suyadi *et al.* (2004) dan Isnaini (2006) bahwa warna semen segar kambing Boer adalah krem keputihan atau putih susu dengan konsistensi rata-rata agak kental.

Rata-rata konsentrasi spermatozoa yang di peroleh dari 5 ejakulat kambing Boer adalah sebesar  $2,17 \pm 0,08 \times 10^9$ /ml. Hasil ini sesuai dengan kisaran konsentrasi spermatozoa untuk setiap ml semen yang dilaporkan Suyadi *et al.* (2004) bahwa semen kambing Boer yang memiliki konsentrasi rata-rata sebesar  $2,67 \times 10^9$ /ml. Akan tetapi hasil penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan yang dilaporkan oleh Isnaini (2006) yaitu sebesar  $3,38 \pm 0,36 \times 10^9$ /ml pada kambing Boer yang dipelihara dipelihara di Indonesia (Malang). Adanya perbedaan ini diduga disebabkan oleh variasi individu, umur dan pola pemeliharaan.

### Derajat Keasaman (pH)

Rata-rata derajat keasaman semen kambing Boer yang diperoleh pada penelitian ini adalah  $6,53 \pm 0,15$ . Hasil ini hampir sama dengan yang diperoleh Suyadi (2003) bahwa pH semen kambing Boer di Indonesia 6,2 sampai 6,9.

### Motilitas dan Spermatozoa Hidup

Persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa dari semen segar kambing Boer yang diperoleh adalah  $76,67 \pm 5,77 \%$  dan  $87,54 \pm 2,18 \%$ . Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan Isnaini (2006) bahwa persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa kambing Boer di Indonesia adalah sebesar  $74,50 \pm 3,69 \%$  dan  $88,03 \pm 3,07 \%$ .

Berdasarkan hasil penilaian semen segar pada Tabel 1 diatas, dapat disimpulkan bahwa semen segar kambing Boer yang digunakan pada penelitian ini mempunyai kategori baik dan memenuhi syarat untuk digunakan sebagai sampel semen untuk dibekukan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Toelihere (1985) dan Balai Inseminasi Buatan Dirjen Peternakan bahwa terdapat beberapa persyaratan yang harus dipenuhi dalam proses pendinginan atau pembekuan semen kambing adalah perkiraan motilitas minimal 70 %, konsentrasi lebih dari 2000 juta per milliliter semen, persentase hidup

spermatozoa minimal 75 %, abnormalitas tidak lebih dari 20 % dan semen memiliki gerakan massa ++/+++.

### Persentase Motilitas Spermatozoa Kambing Boer setelah pendinginan dalam pengencer sitrat kuning telur dengan penambahan sari buah tomat

Motilitas atau daya gerak progresif spermatozoa sesudah proses pendinginan selalu digunakan sebagai pegangan yang termudah dalam penilaian semen untuk inseminasi buatan dengan semen cair. Daya gerak progresif ini mempunyai peranan yang penting untuk keberhasilan fertilisasi. Kecepatan gerakan spermatozoa untuk masing-masing spesies berbeda dan bervariasi sesuai dengan kondisi medium dan suhu lingkungan (Toelihere, 1985; Hafez, 2004). Rata-rata persentase motilitas spermatozoa kambing Boer setelah pendinginan pada keempat kelompok perlakuan penambahan sari buah tomat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata ( $\pm$  Sd) persentase motilitas spermatozoa kambing Boer dalam pengencer sari buah tomat berbagai tingkat konsentrasi

| Perlakuan | Waktu Pengamatan    |                     |                     |                     |
|-----------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|           | 1 jam               | 24 jam              | 48 jam              | 72 jam              |
| P0        | $77,20^a \pm 15,99$ | $68,60^a \pm 12,58$ | $58,20^a \pm 10,28$ | $43,20^a \pm 10,66$ |
| P1        | $78,60^a \pm 13,83$ | $69,00^a \pm 18,19$ | $58,80^a \pm 13,04$ | $48,20^b \pm 14,68$ |
| P2        | $66,80^a \pm 17,02$ | $56,40^b \pm 14,58$ | $34,80^b \pm 14,39$ | $30,40^c \pm 9,89$  |
| P3        | $47,40^b \pm 18,06$ | $21,40^c \pm 2,59$  | $6,40^c \pm 7,11$   | $00,00^d \pm 0,00$  |

Ket : - Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ )

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa rata-rata persentase motilitas spermatozoa kambing Boer selama proses pendinginan dalam pengencer natrium sitrat kuning telur kontrol maupun dengan penambahan sari buah tomat mengalami penurunan. Penurunan persentase motilitas spermatozoa kambing Boer seiring dengan lama waktu pendinginan, makin lama waktu pendinginan makin rendah persentase motilitas spermatozoa yang diperoleh. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh semakin berkurangnya ketersediaan energi dalam bahan pengencer, semakin menuanya umur

spermatozoa dan semakin meningkatnya tingkat keasamaan (pH) semen serta semakin bertambahnya jumlah spermatozoa yang rusak dan mati akibat pendinginan. Rata-rata penurunan persentase motilitas spermatozoa pada tiap perlakuan tidak sama, pada pengencer sitrat kuning telur dengan penambahan sari buah tomat 20 % (P1) masih memperlihatkan persentase pergerakan progresif diatas 40 % (layak

untuk inseminasi) hingga jam ke 72 pendinginan, relatif sama dengan pada kelompok kontrol (P0). Sedangkan pada pengencer sitrat kuning telur dengan penambahan sari buah tomat 40 % (P2) persentase pergerakan progresif spermatozoa bertahan hingga sampai jam ke 48 setelah pendinginan dan pada pengencer sitrat kuning telur dengan penambahan sari buah tomat 80 % (P3) persentase pergerakan progresif spermatozoa hanya mampu bertahan selama 24 jam setelah pendinginan. Hasil penelitian ini sejalan dengan yang dilaporkan oleh Muhaji (2003) bahwa semen kambing setelah pengenceran yang disimpan pada suhu dingin (4 – 5 C) akan mengalami penurunan motilitas secara bertahap seiring dengan lamanya waktu simpan.

Terjadinya penurunan persentase motilitas spermatozoa selama proses pendinginan disebabkan karena adanya perubahan suhu dari 37°C pada saat ejakulasi menjadi 4°C pada saat penyimpanan. Perubahan suhu ini akan menyebabkan sel mengalami destabilisasi secara fisik maupun kimiawi, yang akan meningkatkan permeabilitas membran sel terhadap ion-ion ekstraselluler termasuk ion kalsium, sehingga akan berakibat peningkatan ion kalsium intraselluler yang diikuti dengan meningkatnya ion kalsium dalam mitokondria. Meningkatnya konsentrasi ion kalsium dalam mitokondria ini akan menurunkan sintesa ATP, sehingga cadangan energi yang dapat digunakan untuk motilitas spermatozoa menjadi menurun (Mahmilia *et al.*, 2006). Selain itu adanya cekaman dingin juga akan berakibat terhadap lemahnya ikatan kovalen penyusun protein membran plasma, membran mitokondria maupun komponen penyusun sitoskeleton sebagai sarana penggerak dari spermatozoa (Krinsky, 1992).

Hasil analisis statistik menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) pola satu arah dan dilanjutkan dengan uji BNT terhadap persentase motilitas spermatozoa menunjukkan bahwa pada pengamatan jam ke 1, penambahan sari buah tomat dalam pengencer natrium sitrat-kuning telur

berpengaruh secara nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa kambing Boer. Persentase motilitas spermatozoa pada kelompok penambahan sari buah tomat 20 % (P1) lebih tinggi secara tidak nyata ( $p > 0,05$ ) jika dibandingkan dengan kontrol (P0) dan penambahan sari buah tomat 40 % (P2), serta lebih tinggi secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan penambahan sari buah tomat 80 % (P3). Perlakuan lebih rendah secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P0, namun P2 lebih tinggi secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P3. Sedangkan perlakuan P3 lebih rendah secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P0.

Pada pengamatan jam ke 24 dan 48 jam setelah pendinginan bahwa penambahan sari buah tomat dalam pengencer natrium sitrat-kuning telur berpengaruh secara nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap persentase motilitas individu spermatozoa kambing Boer. Persentase motilitas spermatozoa pada kelompok P1 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan P0, dan lebih tinggi secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P2 dan P3. Perlakuan P2 lebih rendah secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P0, namun lebih tinggi secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P3. Sedangkan perlakuan P3 lebih rendah secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P0.

Sedangkan pada pengamatan jam ke 72 setelah pendinginan, dimana penambahan sari buah tomat dalam pengencer natrium sitrat-kuning telur berpengaruh secara nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa kambing Boer. Persentase motilitas spermatozoa pada kelompok P1 lebih tinggi secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P0, P2 dan P3. Persentase motilitas spermatozoa pada P2 lebih rendah secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P0, namun lebih tinggi secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P3. Persentase motilitas spermatozoa pada P3 lebih rendah secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P0.

Hasil penelitian ini terlihat bahwa penambahan sari buah tomat dalam pengencer natrium sitrat kuning telur dapat mempengaruhi persentase motilitas

spermatozoa kambing Boer. Pengaruh penambahan sari buah tomat ini sudah terlihat sejak 1 jam proses pendinginan. Hal ini mengindikasikan bahwa sudah terjadi interaksi antara komponen-komponen pengencer semen dengan spermatozoa. Selain itu, komponen pengencer semen termasuk kandungan sari buah tomat sudah mempengaruhi metabolisme dan kondisi fisiologis spermatozoa.

Pada penelitian ini terbukti bahwa penambahan sari buah tomat 20 % dalam pengencer natrium sitrat – kuning telur dapat memperbaiki komposisi dan kondisi fisiologis pengencer, sebagaimana terlihat dari persentase motilitas spermatozoa yang lebih tinggi dari kontrol. Kondisi ini terjadi baik pada waktu pengamatan 1 jam maupun 24, 48 dan 72 jam setelah pendinginan. Tingginya persentase motilitas spermatozoa pada kelompok perlakuan penambahan sari buah tomat 20 % dibandingkan kontrol, kemungkinan disebabkan dalam sari buah tomat banyak terkandung vitamin C, vitamin E dan likopen yang bersifat sebagai anti oksidan. Sebagaimana yang dilaporkan oleh Sumardiono *et al.* (2009) bahwa dalam 1 kg buah tomat appel mengandung kadar vitamin C sebanyak 142,1 mg dan likopen sebanyak 66,72 mg. Adanya kandungan vitamin C, vitamin E dan likopen ini dapat mengoptimalkan laju fruktolisis sehingga kebutuhan energi untuk motilitas dan kelangsungan hidup spermatozoa dapat terpenuhi. Selain itu, kandungan vitamin C, vitamin E dan likopen merupakan antioksidan yang dapat mengikat oksigen radikal yang terdapat di dalam sel sehingga dapat mencegah terbentuknya peroksidasi lipid pada membran mitokondria yang dapat menghambat glikolisis dan motilitas. Chinoy *et al.* (1991) melaporkan bahwa pemberian vitamin C yang dikombinasikan dengan vitamin E ternyata dapat mempertinggi kadar  $\text{Na}^+$  dan  $\text{K}^+$  serta aktivitas ATPase dan suksinat dehidrogenase, sehingga mengakibatkan terjadinya peningkatan metabolisme energi spermatozoa kelinci. Werdhany (2004) menyatakan bahwa hidrosinonemal (HNE) merupakan salah satu peroksidasi lipid yang dapat

menghambat glikolisis dan motilitas spermatozoa. Penghambatan motilitas oleh HNE diduga berkaitan dengan penghambatan glukolisis dan oksidasi gugus sulfidril (-SH) dari protein mikrotubulus ekor spermatozoa.

Hasil penelitian ini juga membuktikan bahwa penambahan sari buah tomat 40% dan 80 % dalam pengencer natrium sitrat kuning telur, justru menurunkan persentase motilitas spermatozoa kambing Boer setelah pendinginan. Persentase motilitas spermatozoa pada kelompok penambahan sari buah tomat 40 % dan 80 % lebih rendah secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol (P0). Kondisi ini terjadi baik pada pengamatan 1 jam maupun 24, 48 dan 72 jam setelah pendinginan. Fakta ini mengindikasikan bahwa penambahan sari buah tomat dalam pengencer hanya dapat dilakukan dengan konsentrasi kurang dari 40 %. Rendahnya persentase motilitas membran spermatozoa pada kelompok penambahan sari buah tomat 40 % dan 80 % kemungkinan disebabkan karena terjadinya penurunan pH pengencer, sehingga tidak sesuai lagi dengan kondisi fisiologis spermatozoa. Makin tingginya konsentrasi sari buah tomat juga akan semakin tinggi kandungan vitamin C, vitamin E dan likopen dalam pengencer, sehingga akan lebih mempercepat terjadinya laju fruktolisis dan akumulasi asam laktat dalam pengencer. Percepatan akumulasi asam laktat dalam pengencer, akan semakin dipercepat penurunan pH semen yang selanjutnya akan menyebabkan penurunan aktivitas enzim-enzim metabolisme, akibatnya kebutuhan energi untuk motilitas tidak dapat dipenuhi (Hammerstedt, 1993).

#### **Persentase Spermatozoa hidup Kambing Boer setelah pendinginan dalam pengencer sitrat-kuning telur dengan penambahan sari buah tomat.**

Prinsip pemeriksaan untuk menghitung persentase spermatozoa hidup pada penelitian ini sama dengan yang digunakan Toelihere (1985) yaitu berdasarkan pada perbedaan afinitas warna.

Spermatozoa yang masih hidup akan tetap tidak berwarna saat diberi pewarna eosin, karena eosin yang terikat pada natrium dengan mekanisme pompa natrium akan terdorong keluar. Sedangkan pada spermatozoa yang telah mati tidak terdapat perbedaan potensial ion natrium dan kalium antara di dalam dan luar sel, sehingga eosin yang berikatan dengan natrium akan dengan

mudah berdifusi dan menunjukkan warna pada kepala spermatozoa saat diberi pewarnaan eosin. Rata-rata persentase hidup spermatozoa Kambing Boer yang diamati setelah dilakukan pewarnaan eosin-negrosin pada kelompok perlakuan penambahan sari buah tomat dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata ( $\pm$  SD) Persentase Spermatozoa hidup Kambing Boer dalam pengencer sitrat kuning telur dengan penambahan sari buah tomat.

| Perlakuan | Waktu Pengamatan               |                                |                                |                                |
|-----------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|           | 1 jam                          | 24 jam                         | 48 jam                         | 72 jam                         |
| P0        | 88,00 <sup>a</sup> $\pm$ 10,29 | 80,20 <sup>a</sup> $\pm$ 9,12  | 67,20 <sup>a</sup> $\pm$ 5,17  | 59,00 <sup>a</sup> $\pm$ 5,39  |
| P1        | 88,40 <sup>a</sup> $\pm$ 7,57  | 80,40 <sup>a</sup> $\pm$ 9,18  | 71,60 <sup>a</sup> $\pm$ 8,99  | 62,40 <sup>a</sup> $\pm$ 13,90 |
| P2        | 76,40 <sup>a</sup> $\pm$ 14,64 | 65,60 <sup>b</sup> $\pm$ 12,22 | 49,00 <sup>b</sup> $\pm$ 13,62 | 30,40 <sup>b</sup> $\pm$ 18,18 |
| P3        | 57,00 <sup>b</sup> $\pm$ 21,69 | 36,80 <sup>c</sup> $\pm$ 17,19 | 17,60 <sup>c</sup> $\pm$ 14,97 | 00,00 <sup>c</sup> $\pm$ 0,00  |

Ket : - Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ )

Dari Tabel 4 dapat dilihat bahwa rata-rata persentase hidup spermatozoa kambing Boer dalam pengencer natrium sitrat-kuning telur dengan penambahan sari buah tomat mengalami penurunan seiring dengan lama waktu pendinginan. Makin lama periode waktu pendinginan makin rendah persentase hidup spermatozoa yang diperoleh. Tingkat penurunan persentase spermatozoa hidup setelah pendinginan berbeda-beda antar kelompok perlakuan penambahan sari buah tomat. Tingkat penurunan persentase spermatozoa hidup diperoleh pada kelompok perlakuan pengencer natrium sitrat kuning telur dengan penambahan sari buah tomat 80 %.

Menurunnya persentase spermatozoa hidup pada semua kelompok perlakuan setelah pendinginan disebabkan semakin berkurangnya ketersediaan energi dalam bahan pengencer dan semakin meningkatnya konsentrasi asam laktat dalam media pengencer (Hafez, 2004). Penyimpanan dingin dalam jangka waktu lama menyebabkan peningkatan akumulasi asam laktat sisa metabolisme sel, sehingga menyebabkan kondisi medium menjadi semakin asam. Kondisi ini dapat bersifat racun bagi spermatozoa yang akhirnya

menyebabkan kematian spermatozoa (Sugiarti *et al.*, 2004).

Hasil analisis statistik menggunakan *analisis of variance* (ANOVA) pola satu arah yang dilanjutkan dengan uji BNT terhadap persentase motilitas spermatozoa menunjukkan bahwa pada pengamatan jam ke 1, penambahan sari buah tomat dalam pengencer natrium sitrat-kuning telur berpengaruh secara nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap persentase spermatozoa hidup kambing Boer. Persentase spermatozoa hidup pada kelompok P1 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan P0 dan P2, dan lebih tinggi secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P3. Persentase spermatozoa hidup pada perlakuan P2 lebih rendah secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P0 dan lebih tinggi secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P3. Sedangkan perlakuan P3 lebih rendah secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P0.

Pada pengamatan jam ke 24 setelah pendinginan terlihat bahwa konsentrasi penambahan sari buah tomat semakin berpengaruh terhadap persentase hidup spermatozoa kambing Boer. Persentase hidup spermatozoa pada kelompok P1 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan P0 dan lebih tinggi



secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P2 dan P3. Persentase motilitas spermatozoa pada kelompok perlakuan P2 lebih rendah secara sangat nyata ( $p < 0,01$ ) dibandingkan dengan P0 dan lebih tinggi secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P3. Sedangkan perlakuan P3 lebih rendah secara nyata ( $p < 0,05$ ) bila dibandingkan dengan P0.

Hal yang sama juga terlihat pada pengamatan jam ke 48 dan 72 setelah pendinginan, penambahan sari buah tomat berpengaruh terhadap persentase hidup spermatozoa kambing Boer. Persentase spermatozoa hidup pada kelompok P1 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan P0, dan lebih tinggi secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P2 dan P3. Persentase motilitas spermatozoa pada P2 lebih rendah secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P0 dan lebih tinggi secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P3. Persentase motilitas spermatozoa pada P3 lebih rendah secara sangat nyata ( $p < 0,01$ ) dibandingkan dengan P0.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa penambahan sari buah tomat pada tingkat konsentrasi 20% dalam pengencer sitrat – kuning telur dapat mempertahankan komposisi dan kondisi fisiologis pengencer, sehingga persentase hidup spermatozoa dapat dipertahankan. Keadaan ini terjadi karena dalam sari buah tomat banyak terkandung vitamin C, vitamin E dan likopen yang bersifat sebagai anti oksidan. Adanya kandungan vitamin C, vitamin E dan likopen ini dapat mengoptimalkan laju fruktolisis sehingga kebutuhan energi untuk kelangsungan hidup dapat terpenuhi. Selain itu, kandungan vitamin C, vitamin E dan likopen dapat mengikat oksigen radikal yang terdapat di dalam pengencer maupun sel spermatozoa sehingga dapat mencegah terbentuknya peroksidasi lipid yang dapat merusak membran plasma sel spermatozoa. Menurut Comb (1992) vitamin C yang terkandung dalam sari buah tomat akan segera berubah menjadi askorbil radikal yang sangat reaktif terhadap oksigen radikal maupun hidroksil radikal. Penambahan

vitamin C sebesar 200 mg/100 ml pengencer dapat berperan sebagai pelindung membran plasma spermatozoa kuda (Aurich *et al.*, 1997) dan kambing peranakan Boer (Akbar, 2009) dari kerusakan oleh peroksidasi lipid. Akan tetapi penambahan sari buah tomat melebihi 20% dalam pengencer natrium sitrat kuning telur pada penelitian ini, justru menurunkan persentase spermatozoa hidup kambing Boer setelah pendinginan. Persentase spermatozoa hidup pada kelompok penambahan sari buah tomat 40 % dan 80 % lebih rendah secara sangat nyata ( $p < 0,01$ ) dibandingkan dengan dalam pengencer sitrat kuning telur tanpa penambahan sari buah tomat (P0). Keadaan ini kemungkinan disebabkan karena dengan semakin tingginya konsentrasi sari buah tomat juga akan meninggikan kandungan vitamin C nya dalam pengencer, sehingga akan mempercepat laju fruktolisis dan peningkatan konsentrasi asam laktat dalam pengencer. Tingginya konsentrasi asam laktat akan mempercepat penurunan pH semen yang selanjutnya akan menyebabkan penurunan aktivitas enzim-enzim metabolisme, akibatnya kebutuhan energi untuk kelangsungan hidup tidak dapat dipenuhi (Lehninger, 1982). Selain itu dengan menurunnya pH, terjadi peningkatan konsentrasi  $H^+$  yang akan bereaksi dengan radikal membentuk hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida akan menjadi katalis dalam pembentukan peroksidasi lipid yang dapat merusak membran plasma dan selanjutnya menghambat glikolisis dan tingkat kematian spermatozoa semakin meningkat (Hammerstedt, 1993).

Jika dibandingkan dengan persentase motilitas, terlihat bahwa persentase spermatozoa hidup yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi pada semua kelompok perlakuan penambahan sari buah tomat. Hal ini menunjukkan bahwa banyak diantara spermatozoa yang masih hidup namun tidak mampu bergerak (motil) atau hanya bergerak secara abnormal (bergerak). Persentase spermatozoa hidup biasanya 10 % lebih tinggi daripada persentase motil (Toelihere, 1985).

## KESIMPULAN

### Kesimpulan

Penambahan sari buah tomat dalam pengencer sitrat kuning telur berpengaruh terhadap persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa kambing Boer setelah penyimpanan dingin. Dengan penambahan sari buah tomat sebanyak 20% dalam 100 ml pengencer sitrat kuning telur (P1) menghasilkan persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa kambing Boer yang terbaik setelah penyimpanan selama 72 jam.

### Saran

Disarankan adanya penelitian lanjutan untuk mengetahui penggunaan konsentrasi sari buah tomat yang tepat dalam pengencer supaya dapat meningkatkan kualitas spermatozoa setelah pembekuan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2007. **Laporan Tahunan Dinas Peternakan**. Provinsi Aceh.
- Aurich, J. E., U. Schoneher. H. Hoppe And C. Aurich. 1997. Effect of antioxidants on motility and membrane integrity of chilled-stored stallion semen. **Theriogenology**. 48:185-192.
- Andayani, R., Y. Lisawati dan Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum*. L). **Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi**. 13(1) : 1410-0177.
- Akbar, P. 2010. Efektivitas Penambahan Vitamin C (*Asam Ascorbat*) dalam Pengenceran Susu Skim Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Peranakan Boer setelah penyimpanan dingin suhu 4-5 °C. **Skripsi**. Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Benconi, M. T., C. R. Francia, N.G Mora And M. A Affranchino. 1993. Effect of Natural Antioxidants on frozen bovine semen preservations. **Theriogenology**. 40:841-851.
- Chinoy, N. J., E. Sequeirina and M. V. Narayana. 1991. Effects of Vitamin C and calcium on the reversibility of fluoride-induced alterations in spermatozoa of the rabbits (abstr). **Florida**. 24:29-39.
- Combs, F.G. 1992. **The Vitamins : Fundamental Aspects in Nutrition and Health**. Academic Press Inc., New York.
- Krinsky, N. 1992. Mechanism of Action of Biological Antioxidants, **Proc Soc Exp Biol and Med**. 200.
- Gangyi, X., Z. Hongping, Z. Chanju, X. Xinghi dan Z. Ming, Z. Yi and Z. Li. 2001. **Research on Quality, Preservation Dilutor, and Frozen Technology of Boer Goat Semen**. Conference on Boer Goat in China.
- Hafez, E. S. E. (2000). **Semen Evaluation**. In: **Reproduction in Farm Animals**. Hafez, E. S. E. (Ed.) 7<sup>th</sup> ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Hafez, E.S.E. 2004. **X and Y-Chromosome-Bearing Spermatozoa dalam Reproduction in Farm Animal**. 8<sup>th</sup> ed. Lea & Febiger Philadelphia, USA pp 440 – 44.
- Hammerstedt, H.R., 1993. Maintenance Of Bioenergetic Balance In Sperm And Prevention Of Lipid Peroxidation : A Review Of The Effect On Design Of Storage Preservation System. **Reproduction fertil. Dev**. 5: 675-690.
- Herdis, Yulnawati dan M. A Setiadi. 2003. Pemanfaatan Sari Buah Melon sebagai Media Pengencer Semen Cair Alternatif spermatozoa Domba Garut. **Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia**. 5: 126-131.
- Isnaini, N. 2006. Peranan Trehalosa dalam Pendinginan dan Pembekuan Semen Kambing Boer. **Disertasi**. Program Studi Ilmu-ilmu Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.
- Lehminger, A. L. 1993, **Dasar-dasar biokimia Jilid I**, Alih Bahasa : M. Thenawijaya, Erlangga, Jakarta. Hal. 235-255
- Mahmilia, F., M. Doloksaribu dan F. A. Pamungkas. 2006. Karakteristik Semen Kambing Boer. **Jurnal Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner**.
- Maulida, Dewi dan Naufal, Zulkarnain. (2010). Ekstraksi Antioksidan (Likopen) Dari Buah Tomat Dengan Menggunakan Solven Campuran, N – Heksanan, Aseton, Dan Etanol. **Skripsi**. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. Semarang
- Mujadi. (2003). Kualitas Semen Kambing Peranakan Ettawah yang diencerkan dengan susu segar kambing dengan kuning telur pada penyimpanan suhu 4°C. **Laporan Penelitian**. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.
- Rizal, M. dan Herdis. 2008. **Inseminasi Buatan pada Domba**. Rineka Cipta, Jakarta.
- Salisbury, G. W. dan N. L. Van Denmark. 1985. **Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi**. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. (Diterjemahkan oleh R. Djanuar).
- Solihati, N dan P. Kune. 2004. Pengaruh Jenis Pengencer Terhadap Motilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Semen Cair Sapi

- Simmental. **Laporan Penelitian.** Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran, Bandung.
- Steel, R.G.D and Torrie. 1990. **Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik.** Alih Bahasa Bambang Sumantri. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Sugiarti, T., E. Triwulanningsih, P. Situmorang, R. G. Sianturi, dan D. A. Kusumaningrum. 2004. Penggunaan Katalase dalam Produksi Semen Dingin Sapi. **Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner,** Bogor. Hal: 215-220.
- Sumardiono, Siswo, Basri, Mohamad, P. Sihombing dan Rony. 2009. Analisis Sifat-sifat PSIKO-KIMIA Buah Tomat (*Lycopersicon esculentum*) Jenis Tomat Apel, Guna Peningkatan Nilai Fungsi Buah Tomat sebagai Komoditi Pangan Lokal. **Prosiding Seminar Tugas Akhir S1.** Jurusan Teknik Kimia Universitas Diponegoro 2009.
- Suyadi, 2003. Pengenceran Semen Kambing Dengan Beberapa Pengencer Sederhana dan Aplikasinya Untuk Insiminsi Buatan. **Simetrika** 22. Malang.
- Suyadi, T. Susilawati dan N. Isnaini. 2004. Uji Pembekuan Semen Kambing Boer. **Laporan Penelitian.** Kerjasama Dinas Pertenakan–Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.
- Toelihere, M.R. 1985. **Inseminasi Buatan pada Ternak.** Angkasa. Bandung Halaman 92 – 120
- Toelihere, M.R. 1981. Biological aspects of reproduction and insemination of swamp buffalo. **ASPAC. FFTC. Book Series. Taipei.** 15 : 120 – 136.
- Werdhany, W. I. 2004. Efektivitas Penambahan  $\alpha$  tocoferol di dalam pengencer Tris dan Susu Skim terhadap kualitas semen beku kambing peranakan etawah. **Thesis.** Sekolah Pascasarjana IPB-Bogor.